BEST AVAILABLE COPY



16. 1. 2004

RECEIVED

05 MAR 2004

PCT

WIPO

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 Date of Application:

2002年12月24日

出 願 Application Number:

特願2002-372581

[ST. 10/C]:

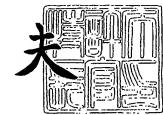
[JP2002-372581]

出 人 Applicant(s):

不二製油株式会社

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office 2004年 2月19日



【書類名】

特許願

【整理番号】

PP13430S

【あて先】

特許庁長官 殿

【国際特許分類】

C07D311/36

A23L 1/20

【発明者】

【住所又は居所】

大阪府泉佐野市住吉町1番地 不二製油株式会社 阪南

事業所内

【氏名】

和根崎 智

【発明者】

【住所又は居所】

大阪府泉佐野市住吉町1番地 不二製油株式会社

事業所内

【氏名】

荒木 秀雄

【特許出願人】

【識別番号】

000236768

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号

【氏名又は名称】 不二製油株式会社

【代表者】

浅原 和人

【電話番号】

0724-63-1564

【手数料の表示】

【予納台帳番号】

029377

【納付金額】

21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】

明細書 1

【物件名】

要約書 1

【プルーフの要否】

要



【書類名】明細書

【発明の名称】高濃度かつ高溶解性のイソフラボン含有組成物及びその製造法【特許請求の範囲】

【請求項1】(A)大豆胚軸を30~95容量%エタノール水溶液を用いて10~50℃で抽出して抽出物を得る工程、(B)抽出物の水溶液を非極性吸着樹脂に接触させて、イソフラボンを吸着させる工程、及び(C)15~40容量%エタノール水溶液を用いて該吸着樹脂からイソフラボンを溶出させる工程、を経ることを特徴とするイソフラボン含有組成物の製造法。

【請求項2】請求項1に記載の方法で得られるイソフラボン含有組成物。

【請求項3】イソフラボン濃度が固形分重量あたり $25\sim60$ 重量%であって、かつ25 \mathbb{C} 、pH7.0の水への溶解度がイソフラボン量として20 mg/100 m1以上であるイソフラボン含有組成物。

【請求項4】大豆胚軸を30~95容量%エタノール水溶液を用いて10~50 ℃で抽出する工程を経ることにより得られる請求項3に記載のイソフラボン含有 組成物。

【請求項5】請求項2~4のいずれかのイソフラボン含有組成物を含有する可食性組成物。

【請求項6】大豆胚軸を30~95容量%エタノール水溶液を用いて10~50 ℃で抽出して得られた抽出物の水溶液を、非極性吸着樹脂に接触させ、次に15~40容量%エタノール水溶液を用いて該吸着樹脂からイソフラボン含有画分を溶出させ、次に65~90容量%エタノール水溶液を用いて該吸着樹脂からサポニン含有画分を溶出させることを特徴とするイソフラボン及びサポニンの分画方法。

【発明の詳細な説明】

[0001]

【発明の属する技術分野】

本発明は高純度であるのに水への溶解性に極めて優れたイソフラボン含有組成物 及びその製造法に関する。



[0002]

【従来の技術】

【特許文献1】

特開昭62-126186号公報

【特許文献2】

特開平8-283283号公報

【特許文献3】

特開2002-80474号公報

【特許文献4】

特開平10-298175号公報

【特許文献5】

特開2000-327692公報

[0003]

大豆にはイソフラボンが存在し、その中には遊離のイソフラボン配糖体であるダイジン、ゲニスチン、グリシチン、マロニルイソフラボン配糖体である6'' -O-マロニルダイジン、6'' -O-マロニルゲニスチン、6'' -O-マロニルグリシチン、アセチルイソフラボン配糖体である6'' -O-アセチルダイジン、6'' -O-アセチルグリシチン、及びイソフラボンアグリコンであるダイゼイン、ゲニスティン、グリシティンが主に含まれる。

[0004]

イソフラボンは骨粗鬆症や更年期障害の緩和など様々な作用が認められている大豆中の有効な成分であり、健康食品等にも添加されるなど、広く利用されている。そのため、イソフラボンを有効に摂取するために様々な抽出法や精製法が考案されている。

[0005]

特許文献1には、大豆の煮汁や大豆を含水有機溶媒にて還流抽出して得られた抽出液を、スチレンージビニルベンゼン重合樹脂等の合成吸着樹脂に接触させ、これに含水有機溶媒(例えばエタノールや70%メタノール)を通過させて、イソフラボンを溶出する方法が開示されている。抽出時の含水有機溶媒の濃度につい



て詳細な記載はないが、実施例2には80%エタノール水溶液を用いることのみが記載されている。しかし、この方法はイソフラボンを安価かつ大量に得ることを目的としているだけで、もとより得られた組成物の水への溶解性については何も記載されていない。

[0006]

特許文献2には、大豆を水で抽出して得られた抽出液を合成吸着樹脂に接触させ、これに例えば20~50%エタノール水溶液を通過させて、マロニルイソフラボン配糖体を精製する方法が開示されている。抽出時の温度としては45~65℃が適当であることが記載されている。この方法は比較的親水性の高いマロニルイソフラボン配糖体を精製することを目的としたものの、水で抽出するため、抽出率が低く、高濃度のイソフラボン組成物が得られない。そして得られた組成物の水への溶解性に関しては何も教示していない。

[0007]

これら特許文献1及び2に記載の方法で得られた組成物はいずれもイソフラボン 含量が低く、水への溶解性も満足のいくものではなかった。

[0008]

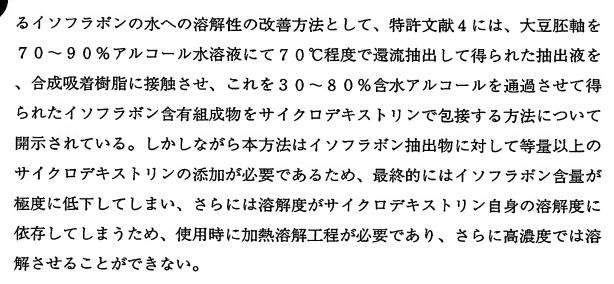
特許文献3には、大豆胚軸を室温~80℃において含水低級アルコール(例えば70%エタノール)にて抽出して得られた抽出液を、均一粒径の陰イオン交換樹脂に接触させ、これを水洗浄後、例えば70%エタノール水溶液を通過させて、遊離のイソフラボン配糖体画分を得る方法が開示されている。しかし、陰イオン交換樹脂で精製して得られた組成物は、イソフラボン含量が60%以上と高純度であるが、溶解度の低い遊離のイソフラボン配糖体を精製したものであるため、水への溶解性が悪く、水溶液での安定性が悪いという問題がある。

[0009]

したがって、特許文献 1~3の方法によっては、飲料への添加も可能な高溶解性かつ高濃度のイソフラボン含有組成物が得られていなかった。

[0010]

それは本来、イソフラボン自体の溶解度が極めて低いことが原因であり、例えばダイジンの溶解度は3.3 mg/100mlしかないためであるためである。かか



[0011]

また、特許文献 5 では α - グルコシル糖化合物の存在下で糖転移化酵素を作用させて α - グルコシルイソフラボンとすることにより溶解性が向上させる方法が開示されている。しかしながら、等モル以上の糖化合物の添加が必要であるため、本方法についてもイソフラボン含量が低下してしまう問題がある。

[0012]

以上のように、サイクロデキストリンのような可溶化剤や糖化合物などの添加物 を使用しなくても、高純度であってかつ水へも高濃度に安定的に溶解し、飲料な どの用途にも利用しやすいイソフラボン含有組成物が望まれていた。

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、可溶化剤の添加や化学修飾等を施さなくとも、天然の状態で高純度であるにも関わらず、水への溶解性にも極めて優れた新規のイソフラボン含有組成物とその製造法を提供するものである。

[0013]

【課題を解決するための手段】

本発明者等は鋭意研究の結果、大豆胚軸を含水アルコールを用いて特定温度域に て抽出し、これを非極性合成吸着樹脂に吸着させ、特定濃度の含水アルコールに て溶出することにより、意外にも上記課題を解決できることを見いだし、本発明 を完成させるに至った。

[0014]



即ち、本発明は、

- (1) (A) 大豆胚軸を30~95容量%エタノール水溶液を用いて10~50 ℃で抽出して抽出物を得る工程、(B) 抽出物の水溶液を非極性吸着樹脂に接触 させて、イソフラボンを吸着させる工程、及び(C) 15~40容量%エタノー ル水溶液を用いて該吸着樹脂からイソフラボンを溶出させる工程、を経ることを 特徴とするイソフラボン含有組成物の製造法、
- (2)上記(1)に記載の方法で得られるイソフラボン含有組成物、
- (3) イソフラボン濃度が固形分重量あたり $25 \sim 6.0$ 重量%であって、かつ $25 \sim 6.0$ 乗 1.00 の水への溶解度がイソフラボン量として 2.0 m g/1.00 m 1 以上であるイソフラボン含有組成物、
- (4) 大豆胚軸を30~95容量%エタノール水溶液を用いて10~50℃で抽出する工程を経ることにより得られる上記(3) に記載のイソフラボン含有組成物、
- (5)上記(2)~(4)のいずれかのイソフラボン含有組成物を含有する可食 性組成物、
- (6) 大豆胚軸を30~95容量%エタノール水溶液を用いて10~50℃で抽出して得られた抽出物の水溶液を、非極性吸着樹脂に接触させ、次に15~40容量%エタノール水溶液を用いて該吸着樹脂からイソフラボン含有画分を溶出させ、次に65~90容量%エタノール水溶液を用いて該吸着樹脂からサポニン含有画分を溶出させることを特徴とするイソフラボン及びサポニンの分画方法、を提供するものである。以下本発明を詳述する。

[0015]

【発明の実施の形態】

本発明のイソフラポン含有組成物は、イソフラボン濃度が固形分重量あたり 25 ~ 60 重量%、より好ましくは $30\sim 60$ 重量%、さらに好ましくは $40\sim 60$ 重量%である。

[0016]

本発明のイソフラボン含有組成物中にはその他の成分としては、固形分換算でサポニンが10~30重量%、蛋白質が8~20重量%、その他糖質を含有する。



さらにサポニン含有量がイソフラボン含有量の $1/4\sim3/4$ 重量倍であることがより好ましい。

[0017]

さらに、本発明のイソフラボン含有組成物は、25℃、pH7.0におけるイソフラボンの水に対する溶解度が20mg/100ml以上、好ましくは50~1200mg/100ml、より好ましくは100~1200mg/100ml、さらに好ましくは500~1200mg/100mlである。さらに溶解性が高いだけでなく、上記高濃度溶液の状態で冷蔵温度(10℃以下)に長期保存しても、沈殿やくすみが生じることはないものである。なお、本発明において溶解度とは25℃において水100mlに対して溶解する溶質中に含まれるイソフラボンの最大量(mg)のことをいう。

[0018]

さらに、本発明のイソフラボン含有組成物は、不溶性物質を可溶化するサイクロデキストリン、オクタニルコハク酸澱粉等の可溶化剤を含有させたり、また糖化合物を含有させて糖転移酵素等によってイソフラボンに親水性の糖化合物を結合させておくことも可能であるが、これらは必須ではなく、むしろ含有しないことが好ましい。いずれもこれらを含有することにより固形分当たりのイソフラボン含量が低下してしまうためである。

[0019]

以上に説明した本発明のイソフラボン含有組成物は、高溶解性かつ高濃度のイソフラボン含有組成物であり、しかも可溶化剤や化学修飾を施さない従来にない天然素材である。本来難溶解性であるイソフラボンが高濃度に含有するにも関わらず、本発明のイソフラボン含有組成物がなぜ高溶解性であるのか、その溶解機構については明らかにされていないが、大豆胚軸中に共に含有するイソフラボン以外の成分、例えばサポニン、ある種の蛋白質、ペプチド等が共存することにより、何らかの相互作用によりイソフラボンが高度に溶解するのではないかと考えられる。

[0020]

以下に本発明のイソフラボン含有組成物の製造方法の態様を示す。



【0021】(抽出原料)

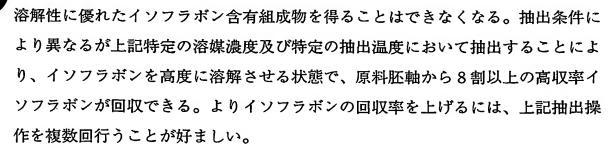
本発明のイソフラボン含有組成物を抽出する原料としては大豆胚軸を用いることが好ましい。大豆胚軸は固形分中のイソフラボン含量が1~2重量%と大豆種子に対して10倍以上であり、高純度のイソフラボン組成物を得るには好適な原料である。大豆胚軸は特に限定されないが、例えば大豆を剥皮して粗割すれば容易に分離して得ることができ、さらに篩過して胚軸純度を高めたものを使用すればなお好適である。また、一般に「大豆胚軸」や「大豆胚芽」として市販されているものを利用することができる。そして大豆胚軸は加熱処理等の前処理を施してもよいが、加熱によりマロニルイソフラボン配糖体が遊離の配糖体に変換してしまうとサポニン等、不純物との分離が困難であるため生大豆胚軸を用いることが好ましい。なお全脂大豆や脱脂大豆等を使用することも可能であるが、イソフラボンの含量が低く、所望のイソフラボン純度にするためには手間、コストが必要であるため、大豆胚軸の方が好適である。

【0022】 (抽出溶媒)

大豆胚軸からイソフラボンを抽出する溶媒としては、エタノール、メタノールやプロパノール等の含水アルコール系有機溶媒を用いるが、特に食品に使用する点からエタノールが好ましい。抽出溶媒のアルコール濃度は $30\sim95$ 容量%とし、より好ましくは $50\sim90$ 容量%、さらに好ましくは $60\sim80$ 容量%とするのが好適である。アルコール濃度が低すぎるとイソフラボンを抽出しにくくなり、イソフラボン回収率が悪くなるばかりではなく、抽出中に本来胚軸中に含まれている β -グルコシダーゼの影響によりイソフラボン配糖体がアグリコンに変換される傾向が強くなり、溶解性の高いイソフラボンが得られなくなる。またアルコールの純度が高すぎてもイソフラボン回収率が低下するばかりではなく、生産コストも上昇するため不適である。

【0023】 (抽出温度)

抽出温度は10℃~50℃にて行うことが重要であり、より好ましくは20℃~40℃にて抽出するのが好適である。もちろん上記の温度域であれば室温抽出を用いてもよい。抽出温度が低すぎると抽出効率が低下してしまい、逆に抽出温度が高すぎると水に不溶性の色素などの物質を抽出してしまうためか、25℃で



【0024】 (吸着剤処理)

次に、上記抽出工程により得られたイソフラボン粗抽出物から、高溶解性かつ高 濃度のイソフラボン含有組成物に精製する。精製工程は第1に、粗抽出物を必要 に応じ水に溶解させ、非極性吸着樹脂に接触させる。なお上記工程により得られ た抽出液はアルコールを含有するため、必要によりアルコール除去し、さらに濃 縮等を行っておくとよい。またアルコール濃度が高い場合は原料中の脂質が抽出 される場合があるため、抽出原料の段階ないし抽出液の段階において脱脂するこ とができる。吸着樹脂としては例えば、多孔性スチレン・ジビニルベンゼン型樹 脂であるHP-20(三菱化学(株)製)、SP-825(三菱化学(株)製) 、アンバーライトXAD-2、XAD-4(ローム・アンド・ハース (株) 製) 、デュオライトS-861、S-862 (住友化学工業 (株) 製) 等の非極性の 合成吸着樹脂を使用することが好ましい。極性を持つ陽イオン交換樹脂であるデ ユオライトC26A(住友化学工業(株)製)や陰イオン交換樹脂であるWA-30 (三菱化学(株)製) 等はイソフラボンを吸着しなかったり、得られたイソフ ラボン素材の溶解性が低く不適である。この操作はタンクに該吸着樹脂を投入し てバッチ式で行っても良いし、カラムに該吸着樹脂を充填して行うことも可能で あるが、製造効率や生産性を考えると樹脂を充填した樹脂筒に粗抽出物の水溶液 を通過させることが好ましい。

【0025】(イソフラボン含有画分の溶出)

次に、該吸着樹脂に吸着させた画分から含水アルコール系有機溶媒により選択的にイソフラボンを溶出させ、回収する。含水アルコール系有機溶媒としては、含水エタノールが好ましい。抽出溶媒の濃度としては15~40容量%エタノールが好ましく、より好ましくは20~35容量%エタノールを用いる。エタノール濃度が低すぎるとイソフラボン含有組成物を回収するために多量の溶媒が必要に

なり、イソフラボンも溶出されにくいため、組成物中のイソフラボンの濃度が低下してしまう。また、エタノール濃度が高すぎるとサポニンなどイソフラボン以外の不純物が多量に溶出してしまい、イソフラボン純度が低下してしまうだけではなく、イソフラボンアグリコンのような水に難溶性の非極性物質も溶出させてしまい、溶解性の高いイソフラボン含有画分が得られない。

【0026】 (イソフラボン含有組成物の加工)

以上の製造方法により得られたイソフラボン含有組成物は加熱、減圧により有機溶剤を除去した後、さらに濃縮後、そのまま「イソフラボンエキス」として使用することもでき、あるいはスプレー乾燥や凍結乾燥により粉末化することもできる。かくして得られたイソフラボン含有組成物はイソフラボン含量が固形物あたり25~60重量%の高濃度であり、さらに25℃、pH7.0における水への溶解度がイソフラボン量として20mg/100m1以上である極めて高溶解性のイソフラボン含有組成物であった。

【0027】(酸沈処理)

以上の方法にて得られたイソフラボン含有組成物はイソフラボン量として20mg/100mlといった通常の使用濃度域ではそのまま使用できるが、酸性域の飲食品に高濃度に添加して使用する場合には溶液の透明性を高めるため、酸性域にpH調整して生ずる不溶物(例えばたんぱく質など)の除去工程をさらに行ってもよい。pHを調整するための酸は食品用の無機酸、有機酸のいずれでも良く、例えば塩酸、硫酸、リン酸、酢酸、リンゴ酸、クエン酸およびアスコルビン酸などが挙げられる。pHは添加する飲食品のpH以下に調整すればよいが、通常4以下、好ましくは3.5以下に調整し、一定時間保持すればよい。保持する際の温度は室温以下、好ましくは10℃以下が適当である。通常、大豆胚軸等からの抽出液にはたんぱく質が含有しており、これが酸性下で沈殿する際にイソフラボンがともに沈殿(共沈)しやすい傾向にある。しかしながら本発明ではアルコールにより抽出を行い、吸着樹脂によって精製しており、たんぱく質の含有量を低下させているため共沈を防止することができる。不溶物とイソフラボンとの分離はろ過、遠心分離など通常、用いられる固液分離処理を行えばよい。

[0028]



なお本願発明において、非極性吸着樹脂からイソフラボン含有画分を15~40 容量%エタノールで溶出した後には、サポニンを主体とする画分が依然として吸着されている。そこで、この画分はより高濃度のアルコール、好ましくは60~95容量%、より好ましくは65~90容量%エタノールで溶出させることによって、固形分重量あたり40重量%以上のサポニンを含有するサポニン含有組成物を得ることができる。このように特定温度によって抽出した抽出物を非極性吸着樹脂に吸着させ、異なるアルコール水溶液で溶出することにより、高濃度かつ高溶解性のイソフラボン含有画分と、高濃度のサポニン含有画分を効率良く分画することが可能となる。

【0029】 (食品等への利用性)

得られたイソフラボン含有組成物は飲料に供してもよいし、錠剤、顆粒などの固 形物など、様々な用途に利用可能である。

さらに高溶解性を利用して、濃縮液としてポーションなどの形態にしてもよいし、ジャムやソースなどの調味料原料としても利用可能である。

[0030]

【実施例】

以下、この発明の実施例を示すが、本発明がこれらによってその技術的範囲が限定される物ではない。なお、本発明においてイソフラボンの測定は(財)日本健康・栄養食品協会の大豆イソフラボン食品規格基準分析法に従い、またサポニンは薄層クロマトグラフィー法により以下のように定量し、蛋白質はケルダール法により定量した。

【0031】 (イソフラボンの定量法)

イソフラボンとして $1\sim10$ mgに対応する試料を正確に秤量し、これに70% (v/v) エタノールを25mL加えた。30分間室温で撹拌抽出した後、遠心分離して抽出液を得た。残渣は同様の抽出操作を更に2回行った。計3回分の抽出液を70% (v/v) エタノールで100mLに定容し、0.45 μ mPVDFフィルターにて濾過したものを試験溶液とした。イソフラボンの確認試験は標準品12種類、すなわちダイジン、ゲニスチン、グリシチン、ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテイン、マロニルダイジン、マロニルゲニスチン、マロニルグリシチン、アセチルダイジン、アセ

チルゲニスチン、アセチルグリシチン(和光純薬工業株式会社)を用い、ほぼ同じリテンションタイムのピークを確認した。定量試験はダイジン標準品を用いて12種類のイソフラボン濃度(ダイジン換算値)を定量し、下記の定量係数を乗じることにより真のイソフラボン濃度を算出した。イソフラボンの定量係数:ダイジン(1.000)、ゲニスチン(0.814)、グリシチン(1.090)、マロニルダイジン(1.444)、マロニルゲニスチン(1.095)、マロニルグリシチン(1.351)、アセチルダイジン(1.094)、アセチルゲニスチン(1.064)、アセチルグリシチン(1.197)、ダイゼイン(0.583)、ゲニステイン(0.528)、グリシテイン(0.740)そして各種イソフラボン濃度の総和からイソフラボン量を求めた。なお、試験溶液及び標準溶液のHPLC条件は表1のように行った。

[0032]

【表1】

<HPLC条件>

() ()

(移動相) A液 アセトニトリル:水:酢酸=15:85:0.1 (v/v/v)
B液 アセトニトリル:水:酢酸=35:65:0.1 (v/v/v)
A液 → B液 直線濃度グラジエント (50分間)

(流 速) 1.0mL/分

(温 度) 25℃

(検 出) UV254nm

(注入量) 10 µ L

【0033】(サポニンの定量)

試料を正確に秤量し、これにメタノールを加え1時間攪拌抽出した後、遠心分離して抽出液を得た。これを再度繰り返し、得られた抽出液を一定量に定容した。これを薄層クロマトグラフィー(TLC)に負荷した後、サポニンの標品とRf値を比較し、サポニンのスポットを確認した。あらかじめサポニン標品にて作製しておいた標準直線を用いて、スポットの面積積分値を求め、サポニン量を算出し



た。表2に薄層クロマトグラフィーの条件を示す。

[0034]

【表2】

<TLC条件>

(TLCプレート) シリカゲル60F254 (厚さ0.25mm、メルク社製)

(展開溶媒) クロロホルム:メタノール:水混液

(65:25:10、v/v/vの下層溶液)

(展開) 18cm

(検出) 10%硫酸溶液を噴霧後、105℃15分間加熱

[0035]

<実施例1>

大豆生胚軸500gに70容量%の含水エタノール2.0Lを加え、30℃にて8時間攪拌抽出を行った。抽出液をろ過により分離した後、再度70容量%の含水エタノール2.0Lを加え、同様に抽出を行い、2回の抽出液を混合した。

該抽出液を減圧下、40℃にて濃縮を行い、有機溶剤を完全に除去した。このようにして得られた粗抽出物を水に溶解し、合成吸着樹脂ダイアイオンHP-20 (三菱化学(株)製)を充填したカラム (100mL) にSV2にて負荷した。次に30容量%の含水エタノールで溶出させることでイソフラボン画分を得た。これを減圧下、40℃にて濃縮を行い、乾燥粉末化してイソフラボン含有組成物15gを得た。得られたイソフラボン含有組成物のイソフラボン濃度は固形分重量あたり48.0%であった。またサポニンは23.8%、蛋白質は14.1%含有していた。

[0036]

<比較例1>(高温抽出)

大豆生胚軸500gに70容量%の含水エタノール1.5Lを加え、70℃にて8時間加熱還流抽出を行った。抽出液をろ過により分離した後、再度70容量%の含水エタノール1.5Lを加え、同様に還流抽出を行い、2回の抽出液を混合した



該抽出液を減圧下、60℃にて濃縮を行い、有機溶剤を完全に除去した。このようにして得られた抽出物を水に溶解し、吸着樹脂ダイアイオンHP-20(三菱化学(株)製)を充填したカラム(100mL)にSV2にて負荷した。次に30容量%の含水エタノールで溶出させることでイソフラボン画分を得た。これを減圧下、60℃にて濃縮を行い、乾燥粉末化してイソフラボン含有組成物20gを得た。得られたイソフラボン含有組成物のイソフラボン濃度は固形分重量あたり38%であった。

[0037]

<比較例2>(高濃度エタノール溶出)

実施例1と同じ方法にて抽出を行い、カラムより溶出するエタノール濃度を70容量%の含水エタノールにて行い、イソフラボン画分を得た。これを減圧下、60℃にて濃縮を行い、乾燥粉末化してイソフラボン含有組成物30gを得た。得られたイソフラボン含有組成物のイソフラボン濃度は固形分重量あたり20.7%であった。

[0038]

< 比較例3>(高温抽出・陰イオン樹脂・高濃度エタノール溶出)

大豆生胚軸500gに70容量%の含水エタノール1.5 Lを加え、70℃にて 8時間加熱還流抽出を行った。抽出液をろ過により分離した後、再度70容量% の含水エタノール1.5 Lを加え、同様に還流抽出を行い、2回の抽出液を混合 した。

該抽出液を減圧下、60℃にて濃縮を行い、有機溶剤を完全に除去した。このようにして得られた抽出物を水に溶解し、陰イオン交換樹脂WA-30(三菱化学(株)製)を充填したカラム(100mL)にSV2にて負荷した。次に70容量%の含水エタノールで溶出させることでイソフラボン画分を得た。これを減圧下、60℃にて濃縮を行い、乾燥粉末化してイソフラボン含有組成物6gを得た。得られたイソフラボン含有組成物のイソフラボン濃度は固形分重量あたり75%であった。

[0039]

実施例1および比較例1、比較例2、比較例3にて得られたイソフラボン組成物の組成表を表3に示した。実施例1で得られたイソフラボン組成物は比較例1、



2 および3 に比べマロニルイソフラボン配糖体の組成が高いものであった。

[0040]

【表3】

(単位:%)

	実施例 1	比較例 1	比較例 2	比較例 3
マロニル体	68.3	19.8	30.3	0.3
アセチル体	8.8	7.6	5. 5	0.9
遊離配糖体	22.8	67.6	53.8	98.5
アグリコン体	0.1	5. 0	10.4	0.3

[0041]

<比較例4>(サイクロデキストリンによるイソフラボン可溶物の製法)

比較例 2 の方法にて得られたイソフラボン含有組成物 5 gに β ーサイクロデキストリン(日本食品化工製) 2 5 g を 8 0 \mathbb{C} の 5 0 %含水エタノール 5 0 0 m 1 に溶解させ、8 0 \mathbb{C} にて 3 時間撹拌した。その後、室温にて一晩静置し、上清側を減圧乾燥した後に粉体 1 0 g を得た。このようにして得られたイソフラボン含有組成物のイソフラボン濃度は固形分あたり 8 . 4 %であった。

[0042]

<実験例1>

実施例 1 および比較例 $1 \sim 3$ により得られたイソフラボン含有組成物をイソフラボン量として 20 m g/100 m 1 となるように、25 \mathbb{C} p H 7.0 の水に撹拌溶解させ、撹拌後の溶解性を確認した。また 2 週間 4 \mathbb{C} にて保存し冷蔵安定性についても確認した。この結果を表 4 に示す。

[0043]

【表4】

実施例

比 較 例

	1	1	2	3	4
エタノール抽出濃度 (%)	70	70	70	70	70
抽出温度(℃)	30	70	30	70	30
エタノール溶出濃度	30	30	70	70	70
(%)					
イソフラボン濃度	48	38	20.7	75	8.3
(固形分重量%)					
撹拌時の溶解性	0	×	×	×	×
(25℃)					
冷蔵2週間後の	0	×	×	×	×
安定性					

(評価基準)○:沈殿、くすみ認められず ×:沈殿またはくすみあり

[0044]

表3の結果より実施例1の場合では固形分中のイソフラボン含量が48%と高純度であり、さらに25℃での溶解性にも極めて優れていた。さらに、2週間後の冷蔵安定性においても極めて優れていたことから、実施例1の製造条件の場合には高濃度でかつ水溶性に極めて優れたイソフラボン含有組成物を得ることが可能である。ちなみに、実施例1において得られたイソフラボン含有組成物をpH7.0、25℃において溶解する最大量(溶解度)を調べたところ、水100m1に対してイソフラボン換算で1200mgまで溶解することが可能であった。

[0045]

比較例1ではイソフラボン含量は38%と高いものの、25℃における溶解性、 冷蔵安定性とも劣っていた。この原因は高温(70℃)で加熱還流抽出を行った



ことにより、本来的に水に難溶性イソフラボンアグリコンや色素などの物質まで 抽出してしまったためと考えられる。

[0046]

比較例2ではイソフラボン含量が20%と低く、25℃における溶解性においても劣っていた。この原因は高濃度のエタノールによってイソフラボン画分を溶出したことにより、吸着樹脂から水に難溶性の非極性物質まで溶出されてしまったためと考えられる。

[0047]

比較例3ではイソフラボン含量は75%と最も高いものが得られていた。しかし25℃において水に不溶であった。この原因は本来イソフラボン自体の溶解度が5mg/L程度であり、精製によって溶解度が向上しなかったためと考えられる。

[0048]

比較例 4 ではサイクロデキストリンにイソフラボンを包接させたため、固形分分中の糖含量が上昇し、イソフラボン含量は 8. 4 %と低かった。また、25 ℃においてはまったく溶解しなかった。この原因はサイクロデキストリンの溶解度に依存するため、25 ℃では溶解しなかったことによると考えられる。なお、溶解させるためには 80 ℃にて 10 分以上の加熱溶解が必要であった。

[0049]

以上の結果より、実施例1の場合のみ高純度でかつ溶解性、冷蔵安定性に優れた イソフラボン含有組成物が得られていた。

[0050]

<実施例2>

実施例1にて得られたイソフラボン含有組成物5gを100mlの水に溶解させ、クエン酸にてpH3.0に調製した。一晩室温にて放置した後、 $3000g \times 10$ 分、遠心分離した後上清側を回収した。これを炭酸水素ナトリウムにてpH6.5に調製したものを乾燥、粉末化し粉末4gを得た。得られたイソフラボン含有組成物のイソフラボン濃度は固形分あたり37%であった。このようにして得られたイソフラボン含有組成物は中性域(pH7.0)、さらには酸性域(pH3.0)において、イソフラボン量として100mg/100ml以上の濃度



域においても溶解性に大変優れており、2週間、冷蔵後においてもくすみ、沈殿が見られず溶解性、冷蔵安定性に優れたイソフラボン含有組成物が得られていた

[0051]

<実施例3> イソフラボン含有飲料

実施例1にて得られたイソフラボン含有組成物を表5に示す配合により調合し、UHT殺菌を行い、飲料を作製した。

[0052]

【表 5】

イソフラボン含有組成物	0. 17g	
砂糖	16.0 g	
グレープフルーツ果汁	1.3 g	
酸味料	1. 0 g	
乳酸カルシウム	0.8 g	
ビタミンD3	1 0 0 IU	
グレープフルーツ香料	0.1 g	
水	80.63g	
合計	200.0 g	_

[0053]

本飲料は溶解性にも優れていて外観、風味とも良好であった。なお、本飲料を 50mL摂取することによりイソフラボンを 40mg摂取することが可能である。

[0054]

<実施例4> イソフラボン含有ポーション飲料の製造

実施例2にて得られたイソフラボン含有組成物を表6に示す配合により調合し、 殺菌後、無菌充填を行いポーション(10g×15個)を作製した。

[0055]



【表 6】

イソフラボン含有組成物	1.	5	g
砂糖	40.	0	g
果汁	10.	0	g
クエン酸	5.	0	g
香料	0.	5	g
水	94.	5	g
合計	150.	0	g

[0056]

このようにして得られたポーションは外観上も良好であり、水100m1に希釈して飲んだところ、風味的にも良好であった。このポーションを1個摂取することによりイソフラボン40mgを摂取することが可能であり、また携帯性にも優れたものである。

[0057]

・【発明の効果】

以上説明したとおり、本願発明により大豆胚軸を原料として可溶化剤の添加や化学修飾を施すことなく天然の状態で高濃度であるにも関わらず、かつ従来の水易溶性イソフラボン組成物に比べて極めて水への溶解性に優れた水易溶性のイソフラボン組成物を提供することが可能となった。これにより、水易溶性であることが要求される飲料を含めた食品全般あるいは医薬品、化粧品におけるイソフラボンの使用用途が飛躍的に拡大される。特にイソフラボンが有する種々の生理機能を利用した特定保健用食品や栄養機能食品等の保健機能食品、特別用途食品その他の健康食品に関連する産業に大きく貢献しうるものである。



【書類名】要約書

【要約】

【課題】本発明は、可溶化剤の添加や化学修飾等を施さなくとも、天然の状態で高純度であるにも関わらず、水への溶解性にも極めて優れたイソフラボン含有組成物を提供するものである。

【解決手段】大豆胚軸を含水アルコールを用いて特定温度域にて抽出した抽 出物を合成吸着樹脂にて吸着させ、特定濃度の含水アルコールで溶出することに より、高純度かつ水への溶解性に極めて優れたイソフラボン含有組成物が得られ ることを見いだし、本発明を完成させるに至った。

【選択図】なし。



認定・付加情報

特許出願の番号 特願2002-372581

受付番号 50201951889

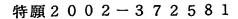
書類名 特許願

担当官 第五担当上席 0094

作成日 平成14年12月25日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成14年12月24日



出願人履歴情報

識別番号

[000236768]

1. 変更年月日

1993年11月19日

[変更理由]

住所変更

住所

大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号

氏 名

不二製油株式会社